УДК 576.895.121 : 597.553.2

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦЕСТОДЫ PROTEOCEPHALUS LONGICOLLIS (CESTODA: PROTEOCEPHALIDAE) В ОНТОГЕНЕЗЕ

© Л. В. Аникиева, Е. П. Иешко

Институт биологии КарНЦ РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910
Поступила 06.03.2006

Изучено качественное разнообразие *Proteocephalus longicollis* в онтогенезе: стадия процеркоида из веслоногих ракообразных, неполовозрелая и половозрелая стадии из европейской ряпушки *Coregonus albula* L. Установлено, что структуру популяции *P. longicollis* формируют доминирующие фенотипы: по форме сколекса — *Sc2*, по типу прикрепления присосок — *S1*, по форме члеников — *P3*, по форме лопастей яичника — *O1*, по типу расположения семенников — *T2*. Имеются также редкие и малочисленные фенотипы. Показана относительная стабильность фенотипической структуры паразита на разных стадиях онтогенеза. Высказывается предположение о высокой выживаемости фенотипа с присоской *S2*.

Исследования популяционной фенетики базируются на представление о фене как о дискретном наследственном признаке, отражающем генотипические особенности особи. «Фены — это любые дискретные, альтернативные вариации признаков и свойств индивидуумов, которые на всем имеющемся (обязательно многочисленном) материале далее неподразделимы без потери качества; фены отражают определенные черты генетической конституции данной особи, а своей частотой — генетическую структуру группы» (Яблоков, 1982: С. 8).

Изучение полиморфизма в онтогенезе представляет собой одно из важных направлений в популяционных исследованиях. Динамика частот фенов в разные моменты жизни одного и того же поколения отражает генетические изменения, происходящие на популяционном уровне, и позволяет выяснить действие естественного отбора (Тимофеев-Ресовский и др., 1977; Шварц, 1980). Однако, несмотря на актуальность данного направления, работ, посвященных изучению изменчивости качественных признаков в зависимости от возраста, мало. Были показаны статистически значимые различия частот фенов расположения предглазничного отверстия между сеголетками и годовалыми песцами п-ова Ямал. Сходные закономерности отмечены при изучении признаков черепа горностая (Яблоков, 1980). Сравнительный анализ продолжительности жизни и темпов полового созревания у «полосатых» и «бесполосых» особей остромордой лягушки показал, что среди «полосатых» выше доля рано созревающих особей и меньше доля долгоживущих, чем у «бесполосых» (Леденцов, 1990).

Работы по популяционной фенетике цестод, появившиеся в последние годы, в основном посвящены *Proteocephalus longicollis* (синоним *P. exiguus*) — паразиту лососевидных рыб Исследования показали, что *P. longicollis* гетерозиготен и полиморфен по биохимическим и морфологическим признакам (Аникеева и др., 2004; Hanzelova et al., 1995; Kralova, 1996; Kralova, Spakulova, 1996). Эти особенности можно объяснить отсутствием выраженной специфичности *P. longicollis*, который встречается у широкого круга хозяев, относящихся к разным семействам и отрядам рыб (Фрезе, 1965; Margolis, Arthur, 1979). Цикл развития *P. longicollis* включает 2 облигатных хозяев — промежуточного хозяина и окончательного. Фиксаторный аппарат цестоды (сколекс и присоски) формируется на стадии процеркоида в промежуточном хозяине и имеет строение, свойственное зрелым червям.

В задачу настоящей работы входило изучение морфологического полиморфизма прикрепительного аппарата и репродуктивной системы *P. longicollis* на разных стадиях онтогенеза. Изучение полиморфизма этих признаков в онтогенезе важно для разработки вопросов гостальной специфичности, видовой диагностики и филогенез цестод.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом послужили цестоды *P. longicollis* из спонтанно зараженных ракообразных — циклопов *Cyclops scutifer* и диаптомусов *Eudiaptomus gracilis* (ларвальная стадия процеркоида) и ряпушки *Coregonus albula* оз. Вендюрского (бассейна р. Суны, южная Карелия) — преадултная (неполовозрелая) стадия и адултная (половозрелая) стадия.

Полиморфизм изучали по признакам, связанным с органами прикрепления: форме сколекса и расположению присосок, а для взрослых цестод дополнительно по трофико-репродуктивным признакам половозрелых члеников: форме члеников и лопастей яичника, расположению семенников (Аникиева и др., 2004). Наличие вариаций, их встречаемость и принадлежность к частотным классам определяли для каждой выборки отдельно (Ларина, 1990). В качестве меры фенетических различий использовали суммарную разницу между частотами отдельных признаков в сравниваемых попарно выборках (Васильев, 1982). Анализ взаимосвязи вариаций признаков выполнен по двухмерной системе координат (Решетников, 1980). Всего были исследованы 21 процеркоид, 80 неполовозрелых особей и 90 половозрелых особей, собранных 8—12 июня 1964 г. (коллекционный материал лаборатории паразитологии животных и растений и лаборатории экологии рыб и водных беспозвоночных Института биологии, сборы Р. П. Малаховой и Л. Г. Бушман).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований у процеркоидов и неполовозрелых особей выделено 2 формы сколекса: ланцетовидная *Sc1* и вздутая ядровидная *Sc2* (рис. 1). У взрослых особей обнаружены 3 формы сколекса: ланцетовидная *Sc1* и вздутая ядровидная *Sc2* дополнились новой — вздутой эллипсоидной *Sc3*. Распределение форм по частотным классам и категори-

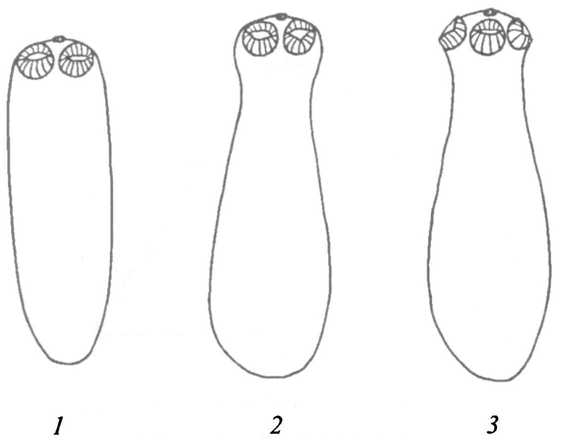

Рис. 1. Форма головного конца *P. longicollis* на личиночной стадии развития.

1 — ланцетовидная *Sc1* с дорзовентральным типом расположения присосок *S1*; *2* — ядровидная *Sc1* с дорзовентральным типом расположения присосок *S1*; *3* — ядровидная *Sc2* с фронтально-латеральным типом расположения присосок *S2*.

Fig. 1. Shape of *P. longicollis* anterior end at the larval phase.

Качественная разнородность *P. longicollis* на разных стадиях онтогенеза

Qualitative heterogeneity of *P. longicollis* at different phases in the ontogeny

Признаки	Частоты, %			Категория		
	Ларва	Преадульт	Адульт	Ларва	Преадульт	Адульт
Сколекс, форма (*Sc*)						
ланцетовидная (*Sc1*)	20	10	12	2	1	2
вздутая ядровидная (*Sc2*)	80	90	85	5	5	5
вздутая эллипсоидная (*Sc3*)	0	0	3	0	0	1
Присоски, расположение (*S*)						
дорзовентрально (*S1*)	95	67	59	5	4	4
фронтально-латерально (*S2*)	5	33	38	1	3	3
диагонально (*S3*)	0	0	3	0	0	1
Членик, форма (*P*)						
короткая широкая (*P1*)	—	—	7	—	—	1
квадратная (*P2*)	—	—	17	—	—	2
субквадратная (*P3*)	—	—	53	—	—	4
длинная (*P4*)	—	—	23	—	—	2
Семенники, расположение						
плотно (*T1*)	—	—	11	—	—	2
рыхло (*T2*)	—	—	89	—	—	5
Лопасти яичника, форма						
уплощенная (*O1*)	—	—	53	—	—	4
округлая (*O2*)	—	—	36	—	—	3
высокая (*O3*)	—	—	11	—	—	2

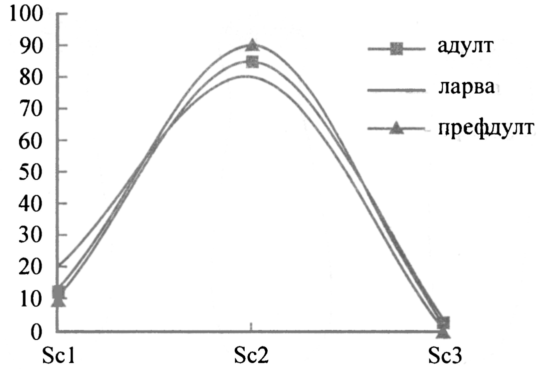

Рис. 2. Частоты встречаемости форм сколекса на разных стадиях развития *P. longicollis*, %.

Fig. 2. Frequencies of occurrence of scolex shapes at different phases of *P. longicollis* development, %.

ям показало, что у всех трех выборок доминировала форма *Sc2*, остальные формы входили в класс низких частот и относились к редким или малочисленным (см. таблицу). Различия в показателях встречаемости общих вариаций сколекса малы: разница в частотах вариации *Sc1* составила −0.1 — +0.08, вариации *Sc2* — +0.1 — −0.05 (рис. 2).

У процеркоидов и неполовозрелых особей *P. longicollis* выделено 2 типа расположения присосок: дорзовентрально *S1* и перекрестно фронтально-латерально *S2* (рис. 1). У взрослых особей обнаружены 3 варианта расположения присосок, которые наряду с отмеченными ранее дополнены новым типом расположения присосок — перекрестно диагонально *S2* и соответствовали установленным ранее для *P. longicollis* из ряпушки оз. Урос (Вендюрская группа озер) (Аникиева и др., 2004). Частоты встречаемости общих типов расположения присосок в изучаемых выборках имели сходный характер: у всех возрастных групп доминировала одна и та же вариация *S1*. Разница в частотах типа расположения присосок *S1* между выборками составила −0.28 — −0.08, суммарная разница — 0.36; вариации *S2* — +0.28, +0.05 и +0.36 соответственно (рис. 3).

Трофико-репродуктивные признаки *P. longicollis* представлены 9 вариациями трех качественных признаков: форма половозрелых члеников — 4 вариации (короткие широкие *P1*, квадратные *P2*, субквадратные *P3* и длинные *P4*), расположение семенников — 2 вариации (плотно прижатые друг к другу *T1*, свободно лежащие *T2*) и форма лопастей яичника — 3 вариации (уплощенная *O1*, округлая *O2*, высокая *O3*). Наиболее часто встречались субквадратная форма членика, свободно лежащие семенники и лопасти яичника уплощенной формы (см. таблицу).

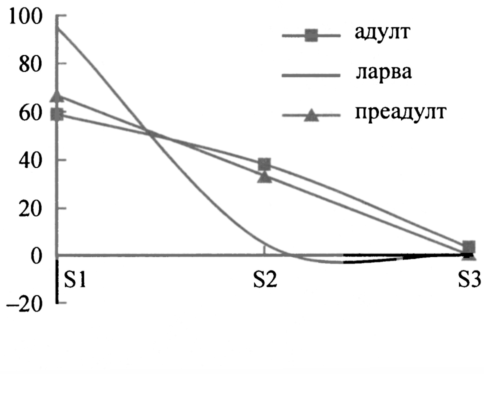

Рис. 3. Динамика частот встречаемости типов расположения присосок на разных стадиях развития *P. longicollis*, %.

Fig. 3. Changes in the frequencies of occurrence of sucker arrangement types at different phases of *P. longicollis* development, %.

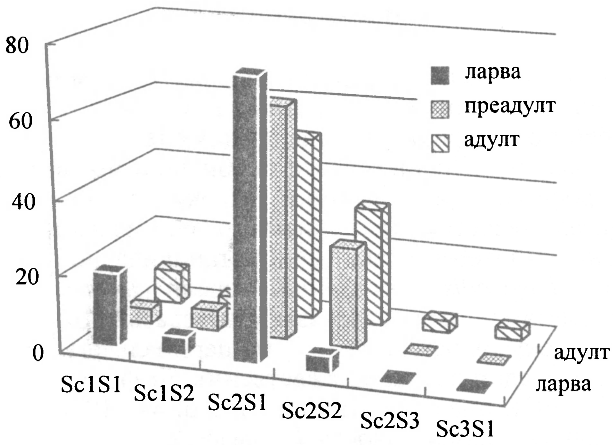

Рис. 4. Частотное распределение фенотипов *P. longicollis* по признакам прикрепления, %.
Fig. 4. Frequency distribution of *P. longicollis* phenotypes by attachment traits, %.

Анализ совместной встречаемости вариаций признаков прикрепления (формы сколекса и расположения присосок) выявил 4 общих для всех трех выборок фенотипа. Распределение фенотипов у всех возрастных групп было сходным: 1 фенотип доминировал, 1 относился к категории малочисленных и 2 фенотипа — редких. Наиболее существенные различия в частотах отмечены между выборками неполовозрелых гельминтов (ларва и преадулт) для фенотипов *ScS1* (отрицательные) и *Sc2S2* (положительные) (рис. 4).

Взаимосвязи вариаций трофико-репродуктивных признаков *P. longicollis* имели относительно широкую норму варьирования. Всего было обнаружено 12 различных сочетаний (75 % от числа возможных). Из них 2 фенотипа (с субквадратными члениками, свободно лежащими семенниками, уплощенной или округлой формой лопастей *P3T2O1* и *P3T2O2*) составили около половины численности группировки, остальные фенотипы были малочисленны и редки. Сходная картина получена и при анализе встречаемости и распределения фенотипов по сочетанию экстерьерных признаков — формы сколекса и формы половозрелых члеников (*Sc* + *P*) и репродуктивных (*T* + *O*) (рис. 5).

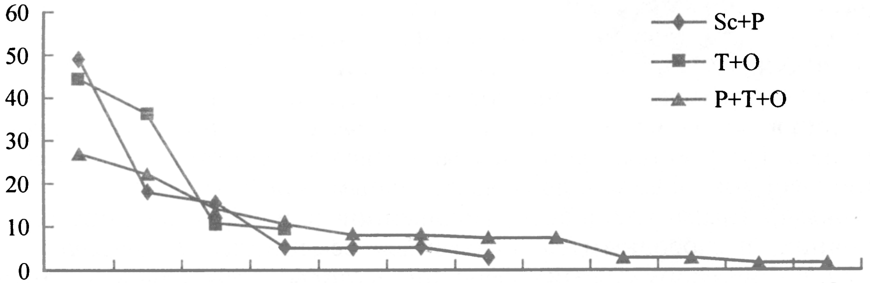

Рис. 5. Кривая встречаемости фенотипов *P. longicollis*, %.
По оси абсцисс — фенотипы (расположены в порядке убывания частоты встречаемости).
Fig. 5. Frequency of occurrence curve of *P. longicollis* phenotypes, %.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный нами анализ морфологического полиморфизма *P. longicollis* в онтогенезе выявил наличие дискретных признаков. У личинок и неполовозрелых особей полиморфны органы прикрепления — форма сколекса и расположение присосок. Половозрелые особи полиморфны по признакам прикрепления, трофики и репродукции. Высокий морфологический полиморфизм *P. longicollis* является отражением его генетического полиморфизма. Ганзелова с соавт. (Hanzelva et al., 1995) установила полиморфизм 3 ферментных систем *P. longicollis* из радужной форели *Oncorhynchus mykiss*: фосфоглюкомутазы, глутамат-оксолоацетазы и эстеразы. Двухполосный фенотип определен для локусов эстеразы — 3, глицеринальдегид-фосфат дегидрогеназа и альдолаза представлены множественными формами. Исследование с помощью RAPD-PCR анализа (Kralova, Spakulova, 1996) обнаружило высокую индивидуальную изменчивость *P. longicollis*. Так, например, в RAPD профиле, полученном с помощью OPA 04 праймера, с максимальной частотой встречались 6 фрагментов, один фрагмент был очень редким, а три фрагмента постоянны и обнаружены в каждом из 20 исследованных экземпляров цестод. По уровню генетической изменчивости *P. longicollis* значительно превосходит хозяев. Показатель полиморфности *P. longicollis* составляет 0.667, средняя гетерозиготность 0.333, в то время как у хозяев — чира *Coregonus nasus* и пыжьяна *C. lavaretus pidschian* они не превышают 0.19, 0.141 и 0.19, 0.084 соответственно (Жигилева, 2004).

Вопросы о границах «нормального» фенотипа, о критериях «нормы» и уклонений от этой «нормы» у гельминтов разработаны слабо. По мнению Шмальгаузена (1982), критерием для оценки свойств является оставление особью жизнеспособного потомства. Поэтому границы нормы должны охватывать весь вариационный ряд половозрелых особей, а «норма» характеризоваться средними величинами различных признаков. Отдельные особи «нормального» фенотипа отличаются друг от друга индивидуальными особенностями, определяемыми как генетическими различиями, так и фенотипическими, возникшими в разных условиях развития генотипически сходных особей. Изменения фенотипа, выходящие за пределы нормы, Шмальгаузен называет уклонениями. «Норма» обладает определенной стабильностью и устойчивостью. В процессе эволюции доминантность нормы достигает оптимального уровня, оставляющего достаточную свободу для проявления наследственной и ненаследственной изменчивости (Шмальгаузен, 1982).

Анализ частотного распределения вариаций признаков и их совместной встречаемости показывает, что на всех стадиях развития *P. longicollis* доминирует один и тот же фенотип по признакам прикрепления. Остальные фенотипы редки и малочисленны. Сходная картина соотношения фенотипов установлена и по трофико-репродуктивным признакам взрослой половозрелой группировки — форме члеников и лопастей яичника, расположению семенников. Полученные нами данные позволяют считать, что особи с ядровидной формой сколекса, дорзовентральным типом расположения присосок, субквадратными члениками, уплощенной или округлой формой лопастей яичника и свободным расположением семенников *P. longicollis*, представляют собой «нормальный» фенотип цестоды, обитающей в ряпушке. Они формируют гостальную форму *P. longicollis*, особенности которой отражают условия обитания хозяина (европейской ряпушки) в оз. Вендюрском. Остальные фенотипы определяют границы «нормы» и являются индивидуальными уклонениями.

«Нормальные фенотипы» гостальных экоформ из разных видов хозяев могут не совпадать. Например, *P. longicollis* из радужной форели *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) имеет иные черты частоты трофико-репродуктивных признаков: удлиненная форма члеников встречается у 60 % особей, членики квадратной формы — у 39 %, короткие широкие — у 1 % особей (Hanzelova et al., 1995). Следовательно, «нормальный фенотип» *P. longicollis* для гостальной экоформы радужной форели имеет стробилу с удлиненной формой половозрелых члеников.

Дифференциальная смертность и выживаемость особей как характеристика популяции гельминтов еще не подвергалась детальному изучению. Тенденции в изменении частот встречаемости вариаций признаков отражают колебания численности особей с данными признаками и различия в показателях смертности и выживаемости. Нами обнаружен перепад в частотах встречаемости расположения присосок в разновозрастных группировках *P. longicollis*. Причем более выраженные различия наблюдались при переходе гельминтов от стадии процеркоида, локализующейся в промежуточном хозяине, к стадии молодых неполовозрелых цестод, развивающихся в окончательном хозяине. С помощью двухмерной системы координат было установлено, что изучаемые выборки различались также характером связи между вариациями признаков прикрепления. В частности, в разных возрастных группировках *P. longicollis* соотношение фенотипов с доминирующей в популяции формой сколекса *Sc2*, но разным расположением присосок *S1* и *S2* изменяется. В ларвальной группировке соотношение фенотипов *Sc2S1* и *ScS2* составляет 15 : 1, в неполовозрелых и половозрелых группировках соотношение более выровнено — от 2.3 : 1 (неполовозрелые) до 1.5 : 1. Данные по динамике частот встречаемости фенотипов *P. longicollis* позволяют предположить, что фенотипы с различным типом расположения присосок адаптивно неравнозначны. Фенотипы с вариацией присоски *S2* могут обладать преимуществом в выживаемости и достижении половозрелости в ряпушке в условиях оз. Вендюрского.

Известно, что внутрипопуляционный отбор является реакцией различных генотипов на воздействие любых локальных условий среды и приводит к постепенному смещению частот различных генотипов в направлении средней приспособленности популяции в целом. На этом пути формируются локальные адаптации и протекает формирование популяционно-генетической основы локальных дифференцировок (Тимофеев-Ресовский и др., 1977). Высокая генетическая изменчивость *P. longicollis* и предпринятый нами популяционно-фенетический анализ морфологического полиморфизма объясняют широкую специфичность гельминта и способность паразитировать в широком круге хозяев. Выявленные нами частоты фенов позволяют охарактеризовать *P. longicollis* из типичного хозяина — европейской ряпушки как гостальную экоформу, типичными признаками которой являются ядровидная форма сколекса, дорзовентральный тип расположения присосок, субквадратная форма половозрелых члеников, свободно лежащие семенники и уплощенная форма яичников.

В настоящее время систематика цестод рода *Proteocephalus* базируется на традиционной морфологической концепции монотипического вида. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что популяционно-фенетический анализ представляет определенную ценность для систематики цестод. Форма сколекса, расположение присосок, форма члеников и лопастей яичника должны учитываться при описании вида и определения его систематического положения, а данные по частотам встречаемости вариаций в ареале необходимы для изучения структуры вида.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Р. П. Малахову и Л. Г. Бушман за предоставленный материал.

Список литературы

Аникиева Л. В., Малахова Р. П., Иешко Е. П. Экологический анализ паразитов сиговых рыб. Л.: Наука, 1983. 168 с.

Аникиева Л. В., Харин В. Н., Спектор Е. Н. Полиморфизм и структура популяции Proteocephalus longicollis Zeder, 1800 (Cestoda: Proteocephalidae) из европейской ряпушки Coregonus albula L. // Паразитология. 2004. Т. 38, вып. 5. С. 438—447.

Васильев А. Г. Опыт эколого-фенетического анализа уровня дифференциации популяционных группировок с разной степенью пространственной изоляции // Фенетика популяций. М.: Наука, 1982. С. 15—24.

Жигилева О. Н. Уровни генетической изменчивости в паразитарных системах // Основные достижения и перспективы развития паразитологии. М.: Институт паразитологии РАН, 2004. С. 104—106.

Ларина Н. И. Каталог фенов как материал для изучения изменчивости // Фенетика природных популяций. М.: Наука, 1990. С. 154—155.

Леденцов А. В. Сравнение продолжительности жизни и времени полового созревания у «полосатых» и «бесполосых» особей остромордой лягушки // Фенетика природных популяций. М.: Наука, 1990. С. 162—163.

Решетников Ю. С. Экология и систематика сиговых рыб. М.: Наука, 1980. 300 с.

Тимофеев-Ресовский Н. В., Воронцов Н. Р., Яблоков А. В. Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука, 1977. 297 с.

Фрезе В. И. Протеоцефаляты — ленточные гельминты рыб, амфибий и рептилий. М.: Наука, 1965. 538 с.

Шварц С. С. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 1980. 276 с.

Шмальгаузен И. И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.: Наука, 1982. С. 383.

Яблоков А. В. Фенетика. М.: Наука, 1980. 132 с.

Яблоков А. В. Состояние исследований и некоторые проблемы фенетики популяций // Фенетика популяций. М.: Наука, 1982. С. 3—14.

Hanzelova V., Snabel V., Spakulova M., Kralova I., Fagrholm H.-P. A comparative study of the fish parasites *Proteocephalus exiguus* and *P. percae* (Cestoda: Proteocephalidae); morphology, isoenzymes, and karyotype // Can. Journ. Zool. 1995. Vol. 3. P. 1191—1198.

Kralova I. A total DNA characterization in Proteocephalus exiguus and P. percae (Cestoda: Proteocephalidae): random amplified polymorphic DNA and hybridization techniques // Parasitol Res. 1996. Vol. 2. P. 668—671.

Kralova I., Spakulova M. Intraspecific variability of Proteocephalus exiguus La Rue, 1911 (Cestoda: Proteocephalidae) as studied by the random amplified polymorphic DNA method // Parasitol Res. 1996. Vol. 82. P. 542—545.

Margolis L., Arthur J. R. Synopsis of the Parasites of Fishes of Canada. Ottawa, 1979. 268 p.

MORPHOLOGICAL POLYMORPHISM OF THE CESTODE PROTEOCEPHALUS LONGICOLLIS ZEDER, 1800 (CESTODA: PROTEOCEPHALIDAE) THROUGH THE ONTOGENY

L. V. Anikieva, E. P. Ieshko

Key words: phenotypic diversity, *Proteocephalus longicollis*, Cestoda, ontogeny.

SUMMARY

The qualitative diversity of *Proteocephalus longicollis* through the ontogeny was studied: procercoids from copepods, immature and mature cestodes from the vendace *Coregonus albula* L. The structure of the *P. longicollis* population was found to be made up of the dominant phenotypes: by the scolex shape — *Sc2*, by the sucker arrangement type — *S1*, by the proglottid shape — *P3*, by the ovary lobe shape — *O1*, by the testes arrangement type — *T2*. Some rare and scant phenotypes are also present. It is shown that the structure of the parasite phenotypes is relatively stable through the ontogeny. The assumption is made about the high survival rate of the *S2* sucker phenotype.